

Traitement des mammites staphylococciques de la brebis par une injection intramusculaire massive de pénicilline

par M. ROGUINSKY,
avec la collaboration technique de M. DUCELLIEZ,
note présentée par H. LAGNEAU

La pénicilline est utilisée en pathologie humaine dans les septiciémies staphylococciques à des doses très élevées (100 millions d'unités par jour). Ces doses dépassent de beaucoup celles qui sont utilisées sur l'animal pour le traitement des mammites par voie générale. Or, ce mode de traitement, malgré les succès enregistrés à plusieurs reprises (TURNBULL 1950, MURPHY et STUART 1951, BENTZIONI 1963, NATZKE, SCHULTZ et KOWALCZYCK 1966, HEIDRICH GRAMATZKI et ADAM 1966), n'a pas été retenu en pratique vétérinaire. Cependant différents travaux (EDWARDS et HASKINS 1953, HOLLISTER et al. 1959, RASMUSSEN 1959, BROWN, ROLLINS et PURKO 1961, FUNKE 1961 et EDWARDS 1966) montrent que le passage de la pénicilline à travers la mamelle devrait permettre des résultats intéressants. La divergence entre les possibilités théoriques et l'utilisation pratique est peut-être due à l'insuffisance des doses utilisées en médecine vétérinaire.

Dans le traitement de la mammite staphylococcique de la brebis, la guérison bactériologique définitive après un diagnostic clinique certain est exceptionnelle (GINEIS, MALTERRE et WILCZYNSKA 1941, MAC LAY et al. 1946, MILJKOVIC et PERKUCIN 1952, BEHRENS 1953, BEN DAVID 1954, KVITRUD et LYSNE 1959, SAETER et EILAND 1961, BUTOZAN et MIHAJLOVIC 1963, PEGREFFI 1963, PETRIS 1963). PLOMMET (communication personnelle, 1967) sur une centaine de brebis infectées par la même souche et dans les mêmes conditions, n'a pu guérir que deux animaux par des injections répétées de pénicilline et de terramycine ou d'auréomycine par voie générale et locale. Il était tentant, dans ces conditions, d'essayer sur les brebis une posologie massive comme en pathologie humaine.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

a) *Troupeau.*

Vingt-six brebis ont été utilisées dans ces essais. Ces animaux, de race Préalpes, pesant de 60 à 75 kg, étaient en première ou en seconde lactation (respectivement 17 et 9 animaux). Ils reçurent une inoculation expérimentale de 150 staphylocoques dans un quartier, au 9^e jour de la mise à la traite mécanique, soit du 52 au 58^e jour de la lactation, puis furent traités 24, 36 ou 48 h après.

Ces brebis servaient par ailleurs à une expérience de vaccination (VIDAL 1968) et un certain nombre avait reçu des injections d'anatoxine α - β de l'Institut Pasteur (8 brebis) ou de leucocidine (9 brebis) ; 9 brebis étaient conservées comme témoins non vaccinés. De cette manière les réponses à l'inoculation étaient très variables, allant de la mammite gangréneuse évoluant en 24 h, à la mammite légère évoluant en plusieurs jours. La plupart des mammites gangréneuses et graves ont été traitées 24 ou 36 h après l'inoculation et les autres 48 h après, dès que le degré de gravité de la mammite a pu être établi sans ambiguïté (VIDAL 1968). Il faut remarquer qu'en pratique le traitement pourrait avoir lieu plus précocement, dès la détection de la maladie, soit 4 ou 5 h plus tôt dans le cas de mammites graves et environ 12 h dans le cas de mammites légères.

b) *Traitement.*

Le traitement a consisté en une dose unique de 20 millions d'unités de pénicilline (Bipénicilline « Specia », 1/4 de pénicilline G, 3/4 de pénicilline G procaïne) diluée dans 50 ml et injectée par voie intramusculaire en deux points. Trois brebis ont toutefois reçu 19 millions d'unités en injection intramusculaire et un million par le canal du trayon.

c) *Contrôle du traitement.*

Des prélèvements de lait ont été faits avant et après le traitement aussi longtemps que cela a été possible compte tenu de l'état de la mamelle, soit à chaque traite pendant 4 jours, puis toutes les semaines pendant un mois. Les brebis présumées guéries après ces contrôles ont été tarées après 7 semaines de lactation, et contrôlées à nouveau au début de la lactation suivante, à 3 reprises pendant un mois.

Le contrôle comprenait un examen bactériologique, une numération cellulaire et une mesure de la quantité de lait produit.

— L'examen bactériologique consistait en un ensemencement de 0,05 ml de lait sur gélose au sang de mouton et incubation de 24 h à 37°. La détection des staphylocoques ne posait pas de problèmes particuliers. Toutes les brebis étaient largement infectées après l'inoculation. La guérison se traduisait par la disparition définitive des staphylocoques des échantillons de lait ; la non-guérison se manifestait soit par l'excrétion permanente des germes, soit par une élimination massive après une phase d'éclipse variant de une semaine à un mois.

— Les numérations cellulaires ont été faites suivant la méthode de PRESCOTT et BREED avec le colorant de LEVOWITZ et WEBER (1956) additionné d'éosine. Le microscope utilisé avait un grossissement de 500 avec un rayon de 0,14 mm et on comptait de 10 à 30 champs. En assimilant la distribution des cellules à une répartition de Poisson, leur nombre peut être considéré comme valable à 30 p. 100 près dans l'intervalle de confiance de 95 p. 100 (CASSELL 1965).

— La quantité de lait produite par la brebis était mesurée à vue dans une éprouvette graduée, les chiffres étant arrondis au 0,01 l. près.

d) *Dosage de la pénicilline.*

La pénicilline a été recherchée par la méthode de GALESLOOT et HASSING (1962) en utilisant par boîte trois disques témoins, imprégnés de solutions à concentrations décroissantes et trois ou quatre disques imprégnés des laits à étudier. Le taux de pénicilline des échantillons était ainsi évalué en comparant leur zone d'inhibition à celle des témoins. La reproductibilité de la méthode était bonne à 0,5 mm près, aussi bien entre deux zones du même échantillon pur qu'entre celles de ses dilutions. L'erreur possible sur le titre peut être estimée à 10 p. 100 en moyenne en tenant compte de l'écart sur le taux entraîné par une différence de 0,5 mm.

RÉSULTATS

1° *Résultats du traitement.*

Les résultats globaux du traitement sont donnés au tableau I. La guérison bactériologique a été obtenue sur 5 brebis à mammite légère sur les 12 soignées (des 13 brebis de ce groupe, une est morte incidemment au cours du traitement). Mais sur les animaux atteints de mammites plus graves, cet objectif n'a pas été atteint ; on peut cependant noter que deux de ces brebis ont présenté une amélio-

TABLEAU I

Nombre de cas de mammites traités, améliorés ou guéris bactériologiquement en fonction du degré de gravité de l'infection

Degré de gravité	Nombre de cas		
	Traités	Améliorés	Guéris
Gangréneuse	5	0	0
Grave	8	2	0
Légère	12	7	5

ration clinique notable. Bien que ces résultats puissent paraître faibles par rapport à ceux obtenus dans les mammites staphylococques de la vache, ils sont dignes d'intérêt pour la brebis, puisque chez cet animal la guérison bactériologique est exceptionnelle.

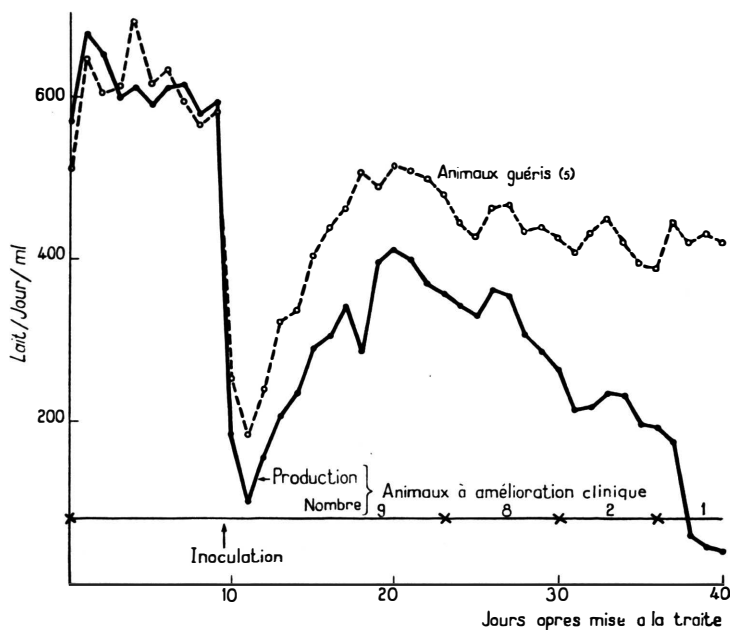


FIG. 1. — Evolution de la production laitière journalière
Moyenne de la production

- 1) des 5 brebis guéries.
- 2) des brebis à amélioration clinique : Nombre variable décroissant avec l'élimination des animaux ayant rechuté.

2° Evolution des mammites après traitement.

Trois groupes de brebis peuvent être retenus : celui des animaux dont l'état n'a pas été amélioré par le traitement, celui où l'on ne constate qu'une amélioration clinique et celui des animaux cliniquement et bactériologiquement guéris.

Dans le premier, les mammites gangréneuses ou graves se caractérisent par un arrêt total de la lactation en un à quatre jours et par la gangrène ou l'induration généralisée et homogène du quartier infecté.

Dans le second, l'amélioration clinique se manifeste par un retour progressif à une certaine production de lait (fig. 1) à partir d'un arrêt presque total 48 h après l'inoculation. De la même façon le nombre de leucocytes diminue temporairement (fig. 2) après la montée rapide due à l'inoculation. Après un délai de 20 jours environ pendant lequel les germes sont réapparus dans le lait, la production laitière baisse de façon très sensible et le nombre de leucocytes

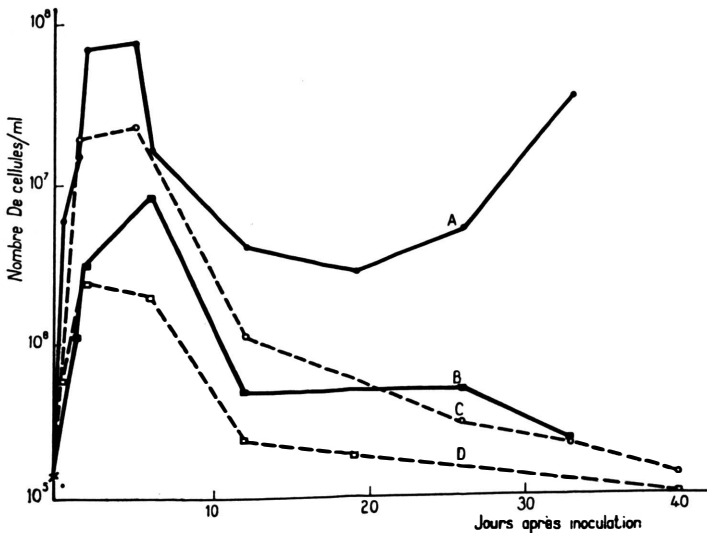


FIG. 2. — Evolution du nombre de cellules dans le lait des brebis soignées

- A. Animaux non guéris, quartier inoculé.
- B. Animaux non guéris, quartier témoin.
- C. Animaux guéris, quartier inoculé.
- D. Animaux guéris, quartier témoin.

remonte. En même temps, l'induration de la mamelle qui était limitée à un petit noyau s'étend peu à peu.

Dans le dernier groupe les brebis guéries présentent un retour progressif à une lactation normale (fig. 1), avec disparition progressive des cellules inflammatoires dans le lait (fig. 2). Il reste cependant un certain nombre d'éléments figurés, formés de débris ou de cellules épithéliales avec quelques leucocytes. On les retrouve encore au début de la lactation suivante à un taux voisin de 100.000 par ml.

3° *Elimination de la pénicilline.*

Les quantités de pénicilline éliminées dans le lait après le traitement sont indiquées au tableau II. Les prélèvements ont été effectués séparément sur les quartiers inoculés et sur les quartiers témoins. La quantité initiale dépasse 5 U. I./ml pendant les 12 premières heures ; on peut admettre que la concentration dans les tissus est supérieure dans les conditions de l'expérience. Elle dépasse ainsi les quantités nécessaires pour l'inhibition d'une population sensible.

TABLEAU II

Elimination de la pénicilline dans le lait en U. I. par ml. en fonction du temps après l'injection, dans les quartiers infectés et témoins

Heures	12	24	36	48	60	72	84	108	120	144	168	252	288
Nombre d'Animaux	12	10	8	8	9	7	7	7	9	6	6	5	5
Quartier inoculé	11	2,5	1,7	0,9	0,7	0,4	0,25	0,29	0,28	0,19	0,24	0,00 6	< 0,002 5
Quartier témoin	9,5	2,1	0,8	1,1	0,45	0,3	0,2	0,16	0,21	0,2	0,26	< 0,002 5	< 0,002 5

L'élimination se poursuit à des doses détectables jusqu'au 21^e jour deux brebis ont même présenté des traces d'antibiotique jusqu'au 38^e jour après l'injection, date à laquelle elles ont été tarées.

Cette excrétion se fait à un taux plus élevé et plus soutenu dans les quartiers infectés que dans les quartiers témoins ; ceci est en accord avec les travaux de FUNKE (1961).

De même 19 prélèvements faits sur des animaux à mammite gangréneuse ont révélé une élimination plus grande par les deux quar-

tiers que pour les animaux à mammite grave ou légère examinés au même moment. Cette différence avait déjà été constatée par HOL-LISTER et al. (1959) sur des quartiers gangrénés.

DISCUSSION

Comme en pathologie humaine des doses massives de pénicilline peuvent donc être utilisées dans le traitement des maladies graves chez les animaux, avec un certain succès.

Les guérisons bactériologiques obtenues sur les mammites légères sont dues au passage dans le tissu mammaire d'une grande quantité de pénicilline et à son élimination importante et prolongée dans le lait. Il faut cependant souligner qu'un peu moins de la moitié seulement des animaux à mammite légère ont été guéris, et uniquement parmi les brebis vaccinées, ce qui limite les espoirs qu'on peut fonder sur cette méthode.

Il convient de mettre à l'actif du traitement sa simplicité, puisqu'une seule injection intramusculaire est suffisante. Cette simplicité a bien entendu un rôle pratique mais aussi un aspect théorique. L'antibiotique agit en effet pour ainsi dire à l'état pur, ce qui permet une étude assez sûre de son pouvoir antibactérien *in vivo*, sans inter-action de la part de l'excipient.

D'autre part il peut être entrepris dès l'apparition des premiers signes de la maladie soit 12 heures au maximum après l'infection comme nous l'avons dit ci-dessus. Dans cette expérience les animaux ont été soignés en moyenne deux jours après l'infection expérimentale, soit 24 h après les premiers symptômes. Un berger attentif à l'état sanitaire de son troupeau pourrait intervenir plus tôt et augmenter le pourcentage de guérisons.

Les guérisons obtenues sont d'autant plus intéressantes que dans les mammites staphylococciques de la vache et de la brebis, le type même de la lésion gêne la pénétration dans le foyer infectieux de l'antibiotique introduit par le canal du trayon (EDWARDS et HASKINS 1953, FUNKE 1961). C'est ce qui en pratique limite le pourcentage de guérisons bactériologiques chez la vache. On dispose ainsi avec la brebis d'un matériel commode qui permet d'obtenir à volonté des mammites de gravité définie ; elles ne sont pas guérissables par un traitement local, et sont donc justiciables d'expérimentations par voie générale.

* * *

L'évolution après traitement de la production laitière et du nombre de cellules dans le lait montre une divergence très nette entre les

animaux guéris bactériologiquement et ceux chez qui les staphylocoques réapparaissent après une phase d'amélioration clinique. Ainsi la lactation des animaux guéris tend à redevenir normale avec un niveau cellulaire bas, alors que chez les brebis qui rechutent la production diminue et le nombre de cellules remonte vers le 20^e jour après l'infection. Cette divergence permet d'apprécier dès ce 20^e jour et même plus tôt la probabilité de guérison ou d'échec du traitement par des contrôles simples, avant même la réapparition des germes dans le lait. Les animaux qui ne guériront pas peuvent ainsi être écartés précocement avant qu'ils ne contaminent leur entourage par les staphylocoques excrétés à nouveau par leur mamelle. La même estimation d'une guérison possible par une diminution précoce du taux de leucocytes a été également observée chez la vache (BLACKBURN, 1956).

Une amélioration des résultats pourra être obtenue par l'utilisation d'autres antibiotiques. C'est ainsi que l'on peut envisager l'étude d'autres pénicillines, différant de la pénicilline G du point de vue ionique comme l'hydroxyiodure de l'ester du diéthylaminoéthanol (RASMUSSEN 1959, HEIDRICH, GRAMATZKI et ADAM 1966) pour pouvoir utiliser des doses moindres s'éliminant plus rapidement, ou du point de vue bactériologique (pénicillines semi-synthétiques) pour une plus grande efficacité.

D'autres anti-infectieux paraissent également intéressants : citons l'érythromycine dont l'élimination a été étudiée par RASMUSSEN (1959) et l'action par SWARBRICK (1966), et la spiramycine qui se concentre dans la glande mammaire (NELKEN et al. 1956, FERRIOT et COTTEREAU 1967). Les autres antibiotiques semblent moins utilisables, mais ont sans doute été injectés à des doses trop faibles ; cependant le traitement par voie générale avec eux ou les sulfamides conserve des partisans (SCHIPPER 1967).

DISCUSSION

M. THIEULIN. — Je voudrais avoir une précision. J'ai entendu que le taux d'élimination était proportionnel à la gravité de l'infection ; dans ces conditions y a-t-il un rapport entre ce taux d'élimination et les guérisons ? Y a-t-il un parallélisme marqué avec la guérison, quel que soit le degré d'injection ?

M. LAGNEAU. — La note ne l'indique pas.

M. VIRAY. — Je voudrais demander au Professeur Lagneau si la souche utilisée pour ces essais a été testée au point de vue de sa sensibilité à la pénicilline. Je crois que c'est une précision primordiale.

M. LAGNEAU. — L'auteur n'en fait pas mention.

M. DURIEUX. — Pour réaliser l'infection du quartier, est-ce que l'injection est faite par le canal du trayon ou par voie transcutanée ?

M. LAGNEAU. — L'auteur ne donne aucune précision. C'est probablement par le canal du trayon.

M. DURIEUX. — Il n'y a pas eu d'essais sur des mammites cliniques ?

M. LAGNEAU. — Non, il s'agit uniquement de mammites expérimentales.

M. DURIEUX. — En somme les résultats ne sont pas tellement favorables ?

M. LAGNEAU. — Non ; les résultats ne sont pas probants. L'expérimentation a été faite sur des mammites relativement bénignes.

M. DURIEUX. — Il semble qu'en utilisant les antibiotiques, même à des doses inférieures à celles de l'auteur, on peut obtenir sinon la guérison clinique — on ne peut pas obtenir de guérison clinique dans les cas de mammite gangréneuse à évolution ultra-rapide — mais très souvent la survie de la brebis.

M. LAGNEAU. — A condition de commencer le traitement au plus tôt. Là, le traitement est commencé seulement, d'une part à la 24^e heure, et d'autre part à la 48^e heure. A mon avis c'est beaucoup trop tardif ; il faut commencer dès le début de l'évolution. L'évolution est en effet toujours très rapide, il y a une véritable sidération de la mamelle par les toxines.

M. CONSTANTIN. — L'Académie de Médecine s'est inquiétée de la présence d'antibiotiques dans le lait. Or, voici une méthode qui provoquera quelques difficultés ; après la guérison on observera un taux d'antibiotiques élevé dans le lait, ce qui sera éminemment dangereux.

M. LAGNEAU. — En vérité il existe dès maintenant des antibiotiques beaucoup moins dangereux pour l'homme, en particulier la staphylomycine, qui n'ont pas été utilisés ici.

M. VICARD. — Pendant de nombreuses années, on a observé des mammites enzootiques des brebis qui constituaient de véritables fléaux. On avait jusqu'à 30 ou 40 p. 100 de mammites qui se terminaient par une gangrène du pis ou un dessèchement progressif de ce pis. Quand ont paru les sulfamides, la mortalité a pratiquement disparu grâce à une seule injection parentérale de sulfamides. Si l'on pratiquait l'ablation du pis, ce qui pouvait se faire très facilement, il y avait 100 p. 100 de guérison. Les mêmes résultats, encore meilleurs même, ont été obtenus plus tard avec les antibiotiques ; non seulement avec la pénicilline, mais aussi avec la terramycine, l'auréomycine....

M. LAGNEAU. — Les sulfamides donnent très souvent d'excellents résultats. D'ailleurs une communication de MM. GINIÉIS et MALTERRE et M^{me} WILCZNSKA a été faite à l'Académie Vétérinaire en 1941 sur ce sujet.

(Centre de Recherches Vétérinaires et Zootechniques.
Station de Pathologie de la Reproduction.
Tours-l'Orfasière).

BIBLIOGRAPHIE

- BEHRENS (H.) (1953). — Beitrag zur Behandlung der infektiösen Schafmastitis mit Sulfonamiden. *Dt. tierärztl. Wschr.*, **60**, 370-372.
BEN DAVID (B.) (1954). — Gangrenous mastitis of milk ewes and his treatment. *Refuah vet.*, **11**, 101-100 (sic).

- BENTZIONI (I.) (1963). — An attempt at the prevention of ovine gangrenous mastitis arising as a complication of foot-and-mouth disease. *Refuah vet.*, **20**, 244.
- BLACKBURN (P. S.) (1956). — Antibiotic treatment of mastitis and its effect on the cell content of the milk. *J. Dairy Res.*, **23**, 225-228.
- BROWN (D. C.), ROLLINS (W. L.) et PURKO (M.) (1961). — Antibiotics in milk. Concentration and persistence after parenteral administration. *Vet. Med.*, **56**, 58-61.
- BUTOZAN (V.) et MIHAJLOVIC (S.) (1963). — Les mammites microbiennes des ovins et des caprins en Yougoslavie. *Bull. Off. int. Epizoot.*, **60**, 1041-1050.
- CASSEL (E. A.) (1965). — Rapid graphical method for estimating the precision of direct microscopic data. *Appl. Microbiol.*, **13**, 293-296.
- EDWARDS (S. J.) (1966). — Penicillin levels in the milk following intramuscular injection. *Vet. Rec.*, **78**, 583-585.
- EDWARDS (S. J.) et HASKINS (M. D.) (1953). — The determination of antibiotic level in blood and milk following parenteral and intramammary injection. *J. comp. Path. Ther.*, **63**, 53-67.
- FERRIOT (A.) et COTTEREAU (P.) (1967). — La spiramycine en médecine vétérinaire. *Cah. Méd. Vét.*, **36**, 67-73.
- FUNKE (H.) (1961). — The distribution of S³⁵ labelled benzylpenicillin in normal and mastitic mammary glands of cows and goats after local and systemic administration. An autoradiographic study. *Acta Vet. Scand.*, **2**, Suppl. 1, 1-88.
- GALESLOOT (T.) et HASSING (F.) (1962). — Une méthode avec des disques de papier rapide et sensible pour la détection de la pénicilline dans le lait (Een snelle en gevoelige methode om met papierschijfjes penicilline in melk aan te tonen). *Ned. Melk-en Zuiveltijdschr.*, **16**, 89-95.
- GINEIS, MALTERRE et WILCZYNSKA (1941). — Emploi des sulfamidés dans le traitement de la mammite des brebis. *Bull. Acad. Vét., Fr.*, **14**, 16-21.
- HEIDRICH (H. J.), GRAMATZKI (H.) et ADAM (H.) (1966). — Therapieversuche bei Streptokokken, und Staphylokokkenmastitiden mit intramuskulären Antibiotikamedikationen.
- I Versuche mit verschieden Penicillin-Streptomycine-Kombinationen. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, **79**, 25-28.
- II Versuche mit den Penathamat-hydrojo did Mamyzin-Veterinaria. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, **79**, 103-105.
- HOLLISTER (C. J.), HUEBNER (R. A.), BOUCHER (W. B.) et DE MOTT (T.) (1959). — Parenteral Benzathine Penicillin V in bovine mastitis. *Am. J. vet. Res.*, **20**, 287-296.
- KVITRUD (A.) et LYSNE (I.) (1959). — Nouvelles recherches sur les mammites de la brebis (Noen undersøkelser over mastitis hos sau). *Nord. Vet. Med.*, **11**, 129-140.
- LEVOWITZ (D.) et WEBER (M.) (1956). — An effective « single solution » stain. *J. Milk Fd Technol.*, **19**, 121-127.
- MAC LAY (M. H.), RANKIN (J. D.), LOOSMORE (R. M.) et SLAVIN (G.) (1946). — Experimental *Staphylococcus aureus* mastitis in sheep. Treatment trial with sulphonamides or staphylococcal toxoid. *J. comp. Path. Ther.*, **56**, 139-147.

- MILJKOVIC (V.) et PERKUCIN (R.) (1952). — Contribution à la connaissance de la mammite gangréneuse ovine (Prilog poznavanji gangrenoznog mastita ovatsa). *Vet. Glasn.*, **6**, 701-708.
- MURPHY (J. M.) et STUART (O. M.) (1964). — The treatment of *Streptococcus agalactiae* infection of the bovine udder by the intramuscular administration of penicillin. *Cornell Vet.*, **44**, 139-147.
- NATZKE (R. P.), SCHULTZ (L. H.) et KOWALCZYK (T.) (1966). — Effect of antibiotic administration on mastitis screening tests and milk composition. *J. Dairy Sci.*, **49**, 948-952.
- NELKEN (S.), PELLERAT, BARBASON et MASSAUX (1956). — Pouvoir de concentration de la glande mammaire vis-à-vis de la spiramycine. *Bull. Fed. Socs. Gynéc. Obstét. Lang. fr.*, **8**, 107.
- PEGREFFI (G.) (1963). — Les mammites infectieuses de la brebis et de la chèvre. *Bull. Off. int. Epizoot.*, **60**, 1009-1040.
- PETRIS (M. A.) (1963). — Ovine and caprine mastitis in Cyprus. A report on the naturally occurring disease. *Bull. Off. int. Epizoot.*, **60**, 989-1007.
- RASMUSSEN (F.) (1959). — Mammary excretion of benzylpenicillin, erythromycin and penethamate hydroiodide. *Acta pharmac. tox.*, **16**, 194-200.
- SAETER (E. A.) et EIELAND (E.) (1961). — Recherches sur les mammites de la brebis dans les fermes norvégiennes (Undersøkelser over mastitis hos sau i fjellbygder i Norge). *Nord. Vet. Med.*, **13**, 32-44.
- SCHIPPER (I. A.) (1967). — Le traitement chimiothérapique de la mammite. *Inform. Med. Vet.*, n° 2/3, 258-272.
- SWARBRICK (O.) (1966). — The use of parenteral erythromycin in the treatment of bovine mastitis. *Vet. Rec.*, **79**, 508-512.
- TURNBULL (1950). — Some remarks on mastitis in the bovine subject with particular reference to acute interstitial mastitis due to strains of *Staphylococcus aureus*. *Vet. Rec.*, **62**, 255-256.
- VIDAL (G.) (1968). — Vaccination avec la leucocidine dans la mammite staphylococcique de la brebis. *Annls Biol. anim. Biochim. Biophys.* (sous presse).